

# PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2002-097187

(43)Date of publication of application : 02.04.2002

(51)Int.Cl.

C07D311/62  
C07H 17/07  
// A23L 1/30

(21)Application number : 2000-287267

(71)Applicant : USAIEN SEIYAKU KK  
SAGAKEN CHIIKI SANGYO  
SHIEN CENTER

(22)Date of filing :

21.09.2000

(72)Inventor : NONAKA GENICHIRO  
ISHIMARU KANJI

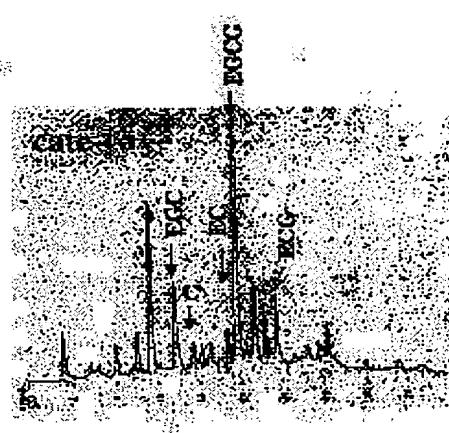
## (54) METHOD FOR EXTRACTING POLYPHENOLS AND POLYPHENOL METAL SALT OBTAINED IN PROCESS OF THE SAME

### (57)Abstract:

**PROBLEM TO BE SOLVED:** To provide a method for extracting selectively polyphenols in a plant extract liquid and essentially comprising (a) adding ascorbic acid to the extract liquid followed by addition of an alkali metal to precipitate polyphenol metal salts and (b) desalting the polyphenol metal salts to obtain free polyphenols.

EGC:  
C: ピザニカテキン  
(+): カテキン  
EC: テニスカテキン  
(-): テニスカテキン  
ZGCG: ピガロカテキン  
KNG: ピガロカテキン  
(-): エピカテキン  
(-): エピカテキン

**SOLUTION:** This method for extracting polyphenols comprises the following: ascorbic acid is previously added to a plant extract liquid so as to prevent the polyphenols from discoloration or decomposition by alkali, thus obtaining polyphenol metal salts almost quantitatively in the form of precipitates; among the polyphenol metal salts, the calcium salt, in particular, is directly usable as a calcium preparation as well as having such activities as antioxidant, antimicrobial and deodorant ones each inherent in polyphenol moiety; furthermore, the polyphenol metal salts can easily be desalted, therefore enabling polyphenols to be produced safely, efficiently and industrially without using any special organic solvent nor complicated chromatography.



---

**LEGAL STATUS**

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Partial Translation of Japanese Laid-Open Patent Publication No.  
2002-97187

Date of Laid-Open: April 2, 2002

Application No. 2000-287267

Filing date: September 21, 2000

Applicants: Usain Seiyaku Kabushiki Kaisha (Japanese phonetic) and  
Saga prefectural regional industry support center

Inventors: Genichiro Nonaka and Mikiji Ishimaru

Title of the Invention:

Method for extracting polyphenols and polyphenol metal salts obtained  
in a process of the method

Claims:

1. A method for isolating polyphenols from a plant extract liquid  
comprising,

    adding ascorbic acid to the plant extract liquid;

    adjusting to pH 6 to 11 by adding an alkali metal compound or  
    an alkali metal salt to the plant extract liquid, thereby precipitating  
    formed polyphenol metal salts in the plant extract liquid;

    dissolving the metal salt in a weak acidic solution;

    allowing the resultant solution to come into contact with an  
    ion exchange resin or a nonionic adsorbent in order to remove the  
    metal in the solution, thereby forming free polyphenols; and

    extracting and recovering the resultant free polyphenols from  
    the resultant solution.

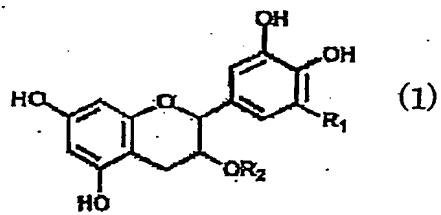
2. The method of claim 1, wherein the plant is a tea, a fruit, a vegetable, a herb, a spice, or a wood.
3. The method of claim 1 or 2, wherein the polyphenols comprise at least one of catechin, epicatechin, epigallocatechin, epicatechin gallate, epigallocatechin gallate, and proanthocyanidins having one of these compounds as a constituent unit, or comprise a flavonoid glycoside such as quercetin, myricetin or the like.
4. The method of claim 1 or 2, wherein the alkali metal compound is calcium hydroxide, aluminum chloride, magnesium chloride, lead acetate, or barium chloride.
5. Polyphenol metal salts produced by the method of claim 4.

**Column 2, lines 31 to 34**

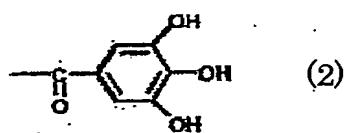
An object of the present invention is to provide an inexpensive, simple, and effective method that can selectively extract polyphenols from the plant extract liquid that contains such various components without using inflammable and toxic organic solvents.

**Column 3, lines 25 to 45**

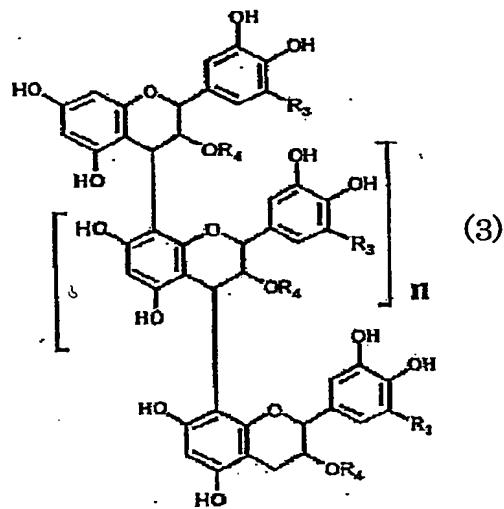
The polyphenols obtained by the method of the present invention are representatively exemplified by catechins shown by the following formula (1), proanthocyanidins shown by the following formula (3), and flavonoids shown by the following formula (4).



In formula (1), R<sub>1</sub> shows H or OH, and R<sub>2</sub> shows H or the following formula (2).



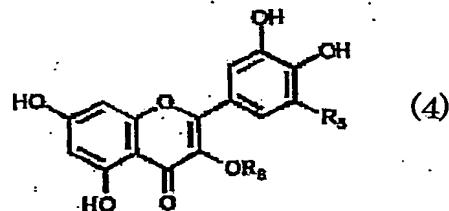
Column 4, lines 7 to 47



In formula (3), R<sub>3</sub> shows H or OH, and R<sub>4</sub> shows H or the above formula (2), and R<sub>3</sub> and R<sub>4</sub> are the same or different from each other.

Examples of the proanthocyanidins shown by formula (3) are as follows:

- (1) Procyanidin B<sub>1</sub> (n=0 and R<sub>2</sub>=R<sub>3</sub>=H in formula (3))
- (2) Prodelphinidin B<sub>2</sub> (n=0, R<sub>3</sub>=OH in formula (3), and R<sub>4</sub> is shown by the above formula (2))
- (3) Procyanidin polymer (n=1 to 10 and R<sub>3</sub>=R<sub>4</sub>=H in formula (3))
- (4) Prodelphinidin polymer (n=1 to 10, R<sub>3</sub>=OH in formula (3), and R<sub>4</sub> is shown by the above formula (2))



In formula (4), R<sub>5</sub> shows H or OH, and R<sub>6</sub> shows a sugar residue.

#### Column 5, lines 4 to 6

As the raw material plants used for the present invention, the plants known to contain polyphenols can be employed. Examples of the plants include tea, fruits, vegetables, and the like.

#### Column 5, lines 12 to 15

Examples of the fruits and the vegetables include persimmon, pear, apple, grape, strawberry, banana, avocado, buckwheat, lotus root, and the like. Furthermore, premature fruits and vegetables of these plants that are picked or culled out can also be used.

#### Column 5, lines 38 to 42

Examples of the alkali metal used for the present invention include

calcium, magnesium, aluminum, barium, zinc, lead, and the like. Considering problems for industrial waste liquid treatment and safety on the body, calcium and magnesium are preferable.

**Column 6, lines 3 to 7**

The plant extract liquid is adjusted to pH 6 to 11 by adding the alkali metal compound. When a compound of calcium, magnesium, barium, or zinc is used as the alkali metal compound, the plant extract liquid is preferably adjusted to pH 7.5 to 10, and when a compound of aluminum or lead is used as the alkali metal compound, the plant extract liquid is preferably adjusted to pH 6 to 7. According to the above-mentioned process, polyphenols are completely precipitated in the form of an alkali metal salt.

**Column 6, lines 18 to 37**

Metal in the polyphenol metal salts obtained in the present invention can be removed by the following method after the polyphenol metal salt is dissolved in a weak acidic solution or a strong acidic solution, or the polyphenol metal salt is suspended in water. The amount of the weak acidic solution, the strong acidic solution, or the water is 1 to 100 times, preferably 5 to 50 times the weight of the polyphenol metal salt. As the weak acidic solution, 0.5wt% to 5wt% of acetic acid solution is preferable. As the strong acidic solution, 0.5wt% to 3wt% of hydrochloric acid or formic acid solution is preferable. Examples of the method for removing the metal are as follows:

(1) The solution is treated with cation exchange resin (e.g., IR-120B or IR-124 manufactured by Rohm and Haas Company, DOWEX 50W-X8 manufactured by The Dow Chemical Company), thereby adsorbing the metal on the resin. Then, free polyphenols are

recovered from the resultant solution containing materials that were not adsorbed.

(2) The solution is treated with nonionic adsorbent, for example, polystyrene resin (MCI-gel CHP20P manufactured by Mitsubishi Chemical Corporation and XAD-2 or XDA-4 manufactured by Rohm and Haas Company), filler used for gel filtration (TOYOPEARL manufactured by TOSOH CORPORATION and Sephadex LH20 manufactured by Pharmacia Biotech), or octadecyl silane resin (Fuji gel ODS-G3 manufactured by Fujigel Hanbai Kabushiki Kaisha (Japanese phonetic)). Then, the nonionic adsorbent is washed with water, thereby eluting metal from the adsorbent. Next, the nonionic adsorbent is washed with alcohol, aqueous alcohol, or aqueous acetone, thereby releasing free polyphenols, and the free polyphenol can be recovered.

Column 8, lines 37 to 46

In the method of the present invention, polyphenols contained in the plant extract liquid are precipitated in the form of a metal salt. Therefore, the method of the present invention is different from the conventional methods in that the present method need not to employ dangerous organic solvent and expensive chromatography support. The method of the present invention is a safe, effective, and practical method for extracting a large amount of polyphenols.

Among the polyphenol metal salts obtained by the method of the present invention, the polyphenol calcium salt is safe for the human body. Since the polyphenol calcium salt easily dissociate into polyphenol and calcium in the human body, both functions of polyphenol and calcium can be expected. Therefore, the present

**invention contributes to the promotion of the human health.**

)

)

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開2002-97187

(P2002-97187A)

(43)公開日 平成14年4月2日(2002.4.2)

(51)Int.Cl.<sup>7</sup>  
C 07 D 311/62  
C 07 H 17/07  
// A 23 L 1/30

識別記号

F 1  
C 07 D 311/62  
C 07 H 17/07  
A 23 L 1/30

マークト(参考)  
4 B 0 1 8  
4 C 0 5 7  
B 4 C 0 6 2

審査請求 未請求 請求項の数 5 OL (全 6 頁)

(21)出願番号 特願2000-287267(P2000-287267)

(22)出願日 平成12年9月21日(2000.9.21)

(71)出願人 300068568  
ウサイエン製薬株式会社  
佐賀県佐賀市材木1-4-6  
(71)出願人 300032123  
財団法人佐賀県地域産業支援センター  
佐賀県佐賀市鍋島町八戸溝114  
(72)発明者 野中 源一郎  
佐賀県佐賀市材木1丁目3番17号  
(72)発明者 石丸 幹二  
佐賀県小城郡三日月町三ヶ島76-11番地

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 ポリフェノール類の抽出方法および該方法の行程で得られるポリフェノール金属塩

(55)【要約】

【課題】 植物抽出液中のポリフェノール類を選択的且つ効率良く分離する方法であって、(a)抽出液にアスコルビン酸を添加し、ついでアルカリ金属を加え、ポリフェノールの金属塩を沈殿させる方法、及び(b)ポリフェノール金属塩を脱塩し、遊離のポリフェノール類を得る方法。

【解決手段】 植物抽出液に予めアスコルビン酸を添加することにより、ポリフェノール類のアルカリによる着色、分解が防止され、ほぼ定量的にポリフェノール金属塩の沈殿を得ることができる。本金属塩のうち、特にカルシウム塩はポリフェノール部の有する抗酸化、抗菌、消臭などの作用の他に、カルシウム剤としてそのままの利用が可能である。さらに、本金属塩は容易に脱塩ができることから、特別の有機溶媒及び煩雑なクロマトグラフィー等を使用することなく、安全で効率的且つ工業的なポリフェノールの製造が可能である。

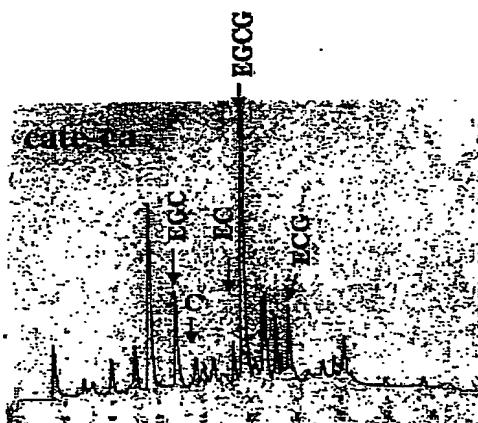
EGC: (-) -エピガロカテキン

C: (+) -カテキン

EC: (-) -エピカテキン

EGCG: (-) -エピガロカテキン 3-O-ガレート

ECG: (-) -エピカテキン 3-O-ガレート



## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 植物抽出液中のポリフェノール類を分離する方法であって、植物抽出液中にアスコルビン酸を添加し、アルカリ金属あるいはアルカリ金属塩を加え、pH 6-11とし、ポリフェノールの金属塩を沈殿させ、さらに、本金属塩を弱酸性溶液に溶解後、イオン交換樹脂あるいは非イオン性吸着剤にて脱塩し、遊離ポリフェノール類を回収することを特徴とする抽出方法。

【請求項2】 植物が茶、果物、野菜、ハーブ、スピス、木材であることを特徴とする請求項1記載のポリフェノール類の抽出方法。

【請求項3】 ポリフェノール類がカテキン、エピカテキン、エピガロカテキン、エピカテキンガレート、エピガロカテキンガレート及びこれらを構成ユニットとするプロアントシアニジン類あるいはケルセチン、ミリセチンなどのフラボノイド配糖体である請求項1又は2記載のポリフェノールの抽出方法。

【請求項4】 アルカリ金属が水酸化カルシウム、塩化アルミニウム、塩化マグネシウム、酢酸鉛、塩化バリウムであることを特徴とする請求項1又は2記載のポリフェノールの抽出法。

【請求項5】 請求項4に記載の方法により製造されるポリフェノールの金属塩。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】本発明はアルカリ溶液に極めて不安定で容易に分解し易い植物ポリフェノール類をアスコルビン酸を添加することにより安定化し、アルカリ金属あるいはアルカリ金属塩を加えることにより、それらの金属塩として分別沈殿させ、さらにこれを脱塩し、ポリフェノール類を抽出する製造方法に関する。さらには、新規なポリフェノールの金属塩、特に生体に安全なカルシウム塩及びマグネシウム塩に関するものである。

## 【0002】

【従来の技術】ポリフェノール類は植物界に広く分布し、なかでも多くの天然食品、例えば、各種の茶、果物類、野菜類などに含まれており、古くから健康維持のために広く利用されている。

【0003】近年、茶、柿、ブドウ、リンゴ、ソバに含まれるポリフェノール類には様々な生理活性が見出されており、新たな機能性物質として注目されている。

【0004】例えば抗酸化作用（特開平4-20262）、腸内有害菌の増殖阻害作用（特開平2-295923）、血糖降下作用（特開平4-253918）、ブラーク形成阻害作用（特開平3-86814）、抗歯周病及び口臭予防効果（特開平3-218320）、シーケラーゼ活性阻害作用（特開平5-17364）、ビフィズス菌増殖促進作用（特開平5-339117）、ヒアルロンダーゼ活性阻害作用（特開平6-9391）など多様な機能が報告されており、現在、各種食品への添

加応用がなされている。

【0005】植物ポリフェノールのなかでも、特に茶ボリフェノール類製造方法に関してはこれまでに種々の報告がなされている。

【0006】例えば茶葉を（1）有機溶媒を用いて抽出する方法（特開平5-79071）、（2）ベタインを添加して抽出する方法（特開平7-196645）及び茶抽出液からボリフェノール類を（3）限外濾過に付し、分子量の差を利用して分画する方法（特開平2-6

10 499）、（4）カラムクロマトグラフィーで分画する方法（特開平2-311374）、（5）有機溶媒で分配する方法（特開平4-182480）、（6）ゲルビーズへの吸着を利用する方法（特開平5-79071）などがある。

【0007】上記方法のうち、（1）および（2）は茶葉からのボリフェノール類の抽出効率を高めために過ぎず、抽出液中には少々のカフェイン、蛋白質、アミノ酸、炭水化物などの夾雑物が含まれており、高純度のボリフェノール類の分離法とは言い難い。また、（4）、（5）、（6）の方法は引火性があり、毒性の強い有機溶媒を使用する点で、安全とは言えず、さらに（3）、（4）、（6）は高価なクロマト担体あるいは装置と共に、煩雑な操作を必要とする点で問題が有り、いづれも大量分取を目的とする工業化には多大のコストと労力を要する。

## 【0008】

【発明が解決しようとする課題】一般に植物の抽出液中には常成分としての炭水化物、蛋白質、アミノ酸、ミネラルなど極めて多種多様の成分が混在している。また、30 茶葉には特殊成分としてカフェインなどが含まれている。本発明はこのような複雑な成分を含む植物抽出液から、引火性で毒性のある有機溶媒を全く使用せずに、安価で簡便且つ効率的にポリフェノール類のみを選択的に抽出することを課題としている。また、本発明は現在、社会的に問題とされている骨粗鬆症予防に有効且つ安全なポリフェノール類のカルシウム塩の製造を目的としている。

## 【0009】

【課題を解決するための手段】本発明は上記目的を達成すべく鋭意研究した結果、予め植物抽出液にアスコルビン酸を添加した後、アルカリ金属あるいはアルカリ金属塩を加え、pH 6-11に調整するとポリフェノール類のみが金属塩として選択的に効率良く沈殿することを見出した。さらに、この金属塩を脱塩すると、遊離のポリフェノールが得られることを知見し、本発明を完成するに至った。

【0010】本発明は上記知見に基づいてなされたもので、(a)植物原料の乾燥重量に対して0.5重量%以上、5重量%以下のアスコルビン酸を添加し、ついでアルカリ金属あるいはアルカリ金属塩を加えpH 6-11に調整

3

することにより、ポリフェノール類を選択的に沈殿させる方法、(b)ポリフェノール金属塩を弱酸性溶液に溶解させ、脱塩し、遊離のポリフェノールを回収することを特徴とする製造方法に関する。さらに、該方法の行程で得られるポリフェノールの金属塩に関する。

## 【0011】

【作用】一般にポリフェノールを含有する植物抽出液はアルカリ性になると溶液あるいは空気中の酸素により容易に酸化され、ポリフェノールの高分子分解物を生じる。しかしながら、抽出液に予めアスコルビン酸を添加しておるとアルカリによる分解は全く認められない。これはアスコルビン酸の強力な抗酸化性に基づくものであり、アスコルビン酸が先に酸化されることにより、ポリフェノールの酸化を防止していることを示している。さらに、沈殿を生じる金属塩はいずれも2価（カルシウム、マグネシウム、バリウム、鉛）あるいは3価（アルミニウム）であることから、ポリフェノールの構造中のカテコールあるいはピロガロール環と化学的なキレート結合をしていることが示される。

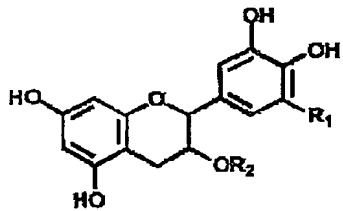
【0012】従って、これらのアルカリ金属による沈殿法は分子構造中にカテコールあるいはピロガロール基を有するすべてのポリフェノール類に適用することができる。

## 【0013】

【好適な実施態様】本発明で得られるポリフェノール類は下記の化1のカテキン類、化3のプロアントシアニジン類及び化4のフラボノイド類に代表される。

## 【0014】

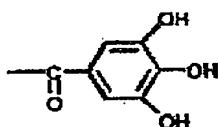
## 【化1】



【0015】化1中、R<sub>4</sub>はI又はIIを示し、R<sub>5</sub>はI又は化2を示す。

## 【0016】

## 【化2】



【0017】化1で示されるカテキン類の具体例としては以下のものがある。

- (1) (-) エピカテキン（化1中、R<sub>1</sub>=H、R<sub>2</sub>=Hのもの）
- (2) (-) エピガロカテキン（化1中、R<sub>1</sub>-OH、R<sub>2</sub>-OHのもの）

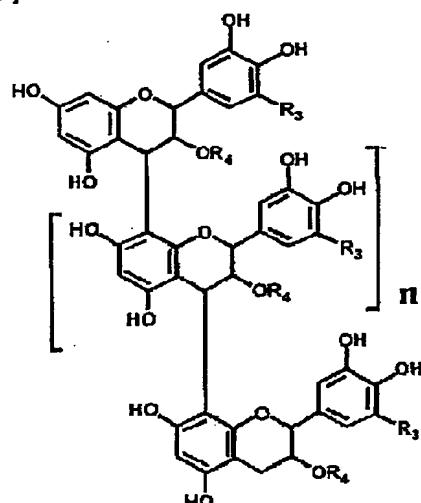
Hのもの)

(3) (-) -エピカテキンガレート（化1中、R<sub>1</sub>=H、R<sub>2</sub>=化2のもの）

(4) (-) -エピガロカテキンガレート（化1中、R<sub>1</sub>=OH、R<sub>2</sub>=化2のもの）

## 【0018】

## 【化3】



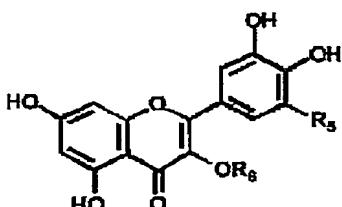
【0019】化3中、R<sub>3</sub>はI又はIIを示し、R<sub>4</sub>はI又は化2を示し、R<sub>5</sub>及びR<sub>6</sub>は同一であっても異なっていても構わない。

【0020】化3で示されるプロアントシアニジン類の具体例としては以下のものがある。

- (1) プロシアニジンB<sub>1</sub>（化3中、n=0、R<sub>1</sub>=R<sub>6</sub>=Hのもの）
- (2) プロデルフィニジンB<sub>1</sub>（化3中、n=0、R<sub>1</sub>-OH、R<sub>4</sub>=化2のもの）
- (3) プロシアニジンポリマー（化3中、n=1-10、R<sub>1</sub>=R<sub>6</sub>=OHのもの）
- (4) プロデルフィニジンポリマー（化3中、n=1-10、R<sub>1</sub>-OH、R<sub>4</sub>=化2のもの）

## 【0021】

## 【化4】



【0022】化4中、R<sub>7</sub>はI又はIIを示し、R<sub>8</sub>は糖を示す。

【0023】化4で示されるフラボノイド類の具体例としては以下のものがある。

- (1) ルチン（化4中、R<sub>7</sub>-H、R<sub>8</sub>-グルコラムノースの

もの)

(2) ミリシトリン(化4中、 $R_1=OH$ 、 $R_2=ラムノース$ のもの)

【0024】本発明における植物原料としてはポリフェノール類を含有していることが知られている植物が適用され、例えば茶、果物、野菜類などが挙げられる。この中で、茶(*Camellia sinensis*, *Camellia sinensis* var. *assamica*等)はその葉及び製造工程でできる粉や茶屑の生又は乾燥物もしくは加熱、揉捻操作を経た加工物、あるいは生の葉を半発酵したもの、及び完全に発酵したものと指す。本発明では緑茶、烏龍茶、紅茶などの茶類が好ましい。果物及び野菜としてはカキ、ナシ、リンゴ、ブドウ、イチゴ、バナナ、アボガド、ソバ、レンコンなどがあり、また、これらの摘果あるいは間引きした未熟なものを使用することができる。

【0025】本発明の抽出液は植物体に対して、重量で1-100倍、好ましくは5-10倍量の水を加え、室温で1-3日、もしくは60-100度で1-8時間、好ましくは3-5時間加熱抽出したもの、あるいは植物体に対して、重量で1-100倍、好ましくは5-20倍量の40-60容量%の水を含むエタノール又はアセトンで室温下、1-3日もしくは40-60度で1-8時間、好ましくは3-5時間加熱抽出し、不溶物を遠心分離あるいは濾紙、フィルター等で濾過して得られる抽出液からエタノール、アセトンを可及的に留去して得られる水溶液を用いることができる。

【0026】抽出に用いる水は水道水、地下水、精製水あるいは蒸留水をそのまま使用することができるが、アルカリ金属としてカルシウム及びバリウムを使用する場合、好ましくは溶存する炭酸ガスを除去するため、一旦煮沸し冷却したものを用いる。

【0027】本発明で抽出液に添加するアスコルビン酸の量は、植物体に対して、0.1重量%以上10重量%以下で、好ましくは0.5重量%以上5重量%以下である。アスコルビン酸の添加量が0.1重量%以下の場合は、アルカリ金属添加により、抽出液は容易に赤褐色に着色しポリフェノール類の酸化分解を起こす。

【0028】本発明で使用するアルカリ金属としてはカルシウム、マグネシウム、アルミニウム、バリウム、亜鉛、鉛などが挙げられ、産業上の廃液処理の問題及び生体に対する安全性を考慮すると、カルシウム及びマグネシウムが好ましい。これらのアルカリ金属は水酸化物としての添加が好ましいが、これらは水に難溶であるため、その塩化物、硫酸塩あるいは酢酸塩を予め抽出液に加え、その後水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、炭酸水素ナトリウム、炭酸ナトリウムなどのアルカリを加えて、pH6-11に調整することができる。なお、カルシウム及びバリウムの場合はアルカリとして炭酸水素ナトリウム、炭酸ナトリウムなどを用いるとそれらの炭酸塩の沈殿を生じるため使用することができない。また、アルカリ

リ金属の水酸化物は固形のままあるいは水に懸濁状態で加えることができる。

【0029】抽出液にアルカリ金属を加えてpH6-11、好ましくはカルシウム、マグネシウム、バリウム、亜鉛などの場合はpH7.5-10、アルミニウム、鉛などの場合はpH6-7に調整し、完全にポリフェノール類のアルカリ金属塩を沈殿させる。

【0030】抽出液中のポリフェノール金属塩の沈殿は遠心分離による分別あるいは濾紙、フィルターなどによる濾過後、水でよく洗滌し、アスコルビン酸及び過剰のアルカリを除くことができる。

【0031】本発明の抽出方法により製造されるポリフェノール金属塩の中で、カルシウム塩はポリフェノールの有する抗酸化、抗菌、消臭などの機能性が期待される他、カルシウム不足を補うものとして、骨や歯の成育促進あるいは骨粗鬆症を予防する食品あるいは医薬品として使用することができる。

【0032】本発明で得たポリフェノール金属塩は重量で1-100倍量、好ましくは5-50倍量の弱酸又は

20 強酸性溶液に溶解させた後、あるいは水に懸濁した状態で脱金属することができる。弱酸性溶液としては0.5-5重量%の酢酸が、また、強酸性溶液としては0.5-3重量%の塗酸あるいは磷酸が好ましい。脱金属の方法としてはこれらの溶液を陽イオン交換樹脂(IR-120B, IR-124, ローム&ハース社製、ダウエックス50W-X8, ダウケミカル社製等)で処理し、金属を吸着させ、非吸着部から遊離のポリフェノールを得る方法及び溶液を一旦、非イオン性吸着剤、例えばポリスチレン系樹脂(MCI-ge 1 CHP20P, 三菱化成(株)社製、XAD-2, XAD-4等、ローム&ハース社製)、ゲル濾過用充填剤(トヨバールHM-40, (株)東ソー社製、セファデックスLH-20, ファルマシア社製)あるいはオクタデシルシラン系樹脂(フジゲルOD S-G3, 富士ゲル販売(株)社製)で処理し、水で樹脂を洗浄することにより、金属を溶出させ、ついでアルコール、含水アルコールあるいは含水アセトンで樹脂を洗滌することにより吸着した遊離のポリフェノールを回収する方法などが挙げられる。陽イオン交換樹脂及び非イオン性吸着剤への吸着、洗浄あるいは脱着は一つの容器で行うバッチ方式でも担体を充填したカラム方式でも可能である。

30 【0033】溶媒の除去方法は常温加熱濃縮法、減圧濃縮法、スプレードライ法、凍結乾燥法などを単独あるいは組み合わせて用いることができる。

【0034】本発明の抽出方法は危険で引火性の強い有機溶媒、特別の装置及び高価な試薬を必要としない点で、安全かつ簡便であり、生理活性の高いポリフェノール類を効率良く抽出することができる。また、植物抽出液中に含まれる他の夾雑物、例えば炭水化物、蛋白質、アミノ酸、ミネラルと、その他、各種の植物に固有の成分(カフェイン、サボニン、配糖体など)からポリフェノ

ール類のみを選択的に抽出できる方法である。さらに、この抽出行程で沈殿として得られるポリフェノール金属塩の中、カルシウム塩は現在、社会的に問題化している日本人のカルシウム不足を補うものとして食品あるいは医薬品への応用が可能である。

【0035】以下実施例により、本発明を具体的に説明する。ただし、本発明はこれら実施例によりその技術的範囲が限定されるものではない。

#### 【0036】

##### 【実施例】

【実施例1】煎茶100gに一旦煮沸し冷却した精製水1lを加え、80°Cで3時間加熱抽出する。冷後、不溶物を濾過によって除き、860mlの抽出液を得た。この液にアスコルビン酸4gを加え、さらによく攪拌しながら水酸化カルシウム4gを少量づつ加えた。この時のpHは約10であった。生じた黄緑色沈殿を吸引濾過により分取し、水で洗浄後、乾燥を行い、茶ポリフェノールのカルシウム塩8.5gを得た。本品を3%酢酸水溶液200mlに溶解し、陽イオン交換樹脂(Dowex 50W-X8, ダウケミカル社製)を加え、30分間攪拌した。樹脂を吸引濾過、水洗し、濾液と洗液を合わせ、減圧下溶媒を留去し、遊離のポリフェノール6.2gを得た。

#### 【0037】

【比較例1】アスコルビン酸を添加しないで、実施例1と同様な操作を行った。結果は水酸化カルシウムを徐々に加えることにより、溶液は次第に黒褐色になり、分解物を含む黒褐色沈殿2gを得た。

#### 【0038】

【実施例2】煎茶100gを実施例1と同様な抽出を行い、820mlの抽出液を得た。この液にアスコルビン酸4g、塩化アルミニウム5gを加え、攪拌しつつ炭酸水素ナトリウムを少量づつ加え、pHを6とした。生じた黄色ゲル状沈殿を吸引濾過、水洗後、乾燥しポリフェノールのアルミニウム塩8.8gを得た。本品を3%酢酸150mlに溶解し、ポリスチレン系樹脂(MCI-gel CH P 20P, 三菱化成社製)を充填したカラム(5.0φ×18cm)に流し、ポリフェノールを吸着させた。カラムを精製水200mlで洗浄後、80%エタノール300mlを流し、溶媒を減圧留去して遊離のポリフェノール6.4gを得た。

#### 【0039】

【実施例3】新鮮な渋柿未熟果の蒂と種子を取り除いた果肉250gに水1000mlを加え、ジューサーで粉碎後、不溶部を布漉しする。濾液を一旦沸騰水中に10分間浸し、酵素を失活させた。この抽出液にアスコルビン酸8gを加え、攪拌しつつ水酸化カルシウム7gを加えた。生じた黄褐色沈殿を吸引濾過し、水洗後、乾燥しポリフェノールのカルシウム塩18.6gを得た。本品を5%酢酸水溶液300mlに懸濁し、陽イオン交換樹脂(Dowex 50W-X8, ダウケミカル社製)を加え、1時間攪拌し

た。樹脂を吸引濾過、水洗し、濾液と洗液を合わせ、減圧下、溶媒を留去して柿ポリフェノール15.3gを得た。

#### 【0040】

##### 【評価試験1】金属定量試験

実施例1及び比較例1において得た茶ポリフェノールのカルシウム塩についてカルシウムの定量試験を行った。すなはち、それぞれのカルシウム塩の約0.1gを正確に秤量し、1%塩酸50mlに溶解後、原子吸光光度計

10 (Z8000型、日立社製)で分析を行った。なお、カルシウムの標準溶液は和光純業製金属標準溶液を使用した。【0041】実施例1及び比較例1で得た試料のカルシウム含量はそれぞれ14.8%、17.4%であり、このことは茶カテキン1分子当りカルシウム1~2個が結合していることを示している。

#### 【0042】

##### 【評価試験2】ポリフェノール類の高速液体クロマトグラフィーによる分析

実施例1で得た茶ポリフェノールのカルシウム塩について下記の方法でポリフェノール組成の分析を行った。結果は図1に示す。

【0043】カルシウム塩10mgを2%酢酸2mlにて室温下30分抽出し、ミリボアフィルターで濾過、高速液体クロマトグラフ(HPLC)分析に付した。HPLCの条件は以下の通りである。カラム: TSK-gel ODS-80TS(4.6×250mm)、カラム温度: 40°C、移動相: A; 1mMテトラブチルアンモニウムクロライド(pH2.9, 酢酸)、B; アセトニトリル、A:B=9:1⇒1:4(30分間)、流速: 0.75ml/min、検出: 280nm。

30 【0044】本発明品である実施例1で得た茶ポリフェノールのカルシウム塩は茶葉を水抽出して得たポリフェノール類と同様の組成を示した。従って、本発明の方法により製造される金属塩はアルカリ条件下での沈殿形成であるにもかかわらず、酸化あるいはエステル基の加水分解が生じていないことを示す。

#### 【0045】

【発明の効果】植物抽出液からポリフェノール類を金属塩として沈殿させる本発明は危険な有機溶媒並びに高価なクロマト担体を必要としない点で、従来の方法と異なり、安全且つ効率的な極めて実用性の高いポリフェノールの大量抽出法である。

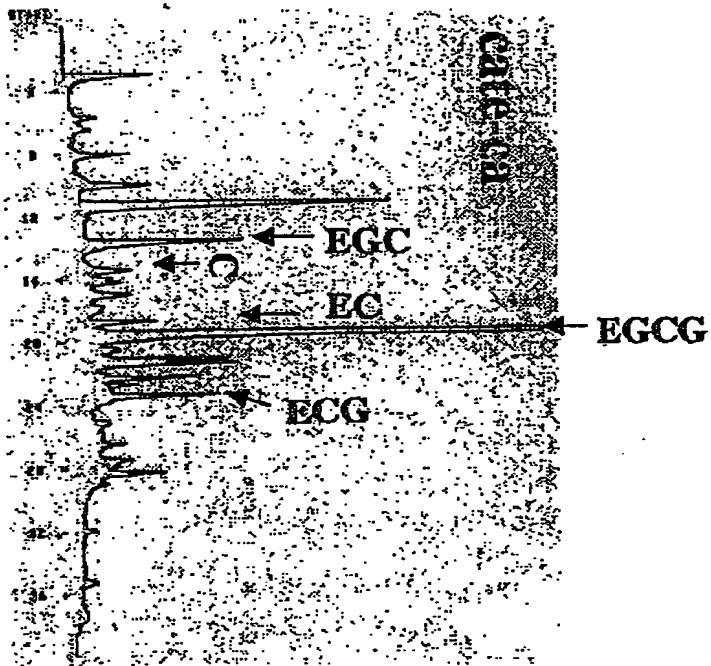
【0046】本発明で得られるポリフェノールの金属塩のなかで、特にカルシウム塩は生体にも安全であり、体内で容易にポリフェノールとカルシウムとに解離することから、両者の種々の機能性が期待される。従って、本発明は人の健康増進に貢献するところ大である。

#### 【0047】

##### 【図面の簡単な説明】

【図1】実施例1における茶ポリフェノールの高速液体クロマトグラムを示す。

【図1】



EGC:	(-) —エピガロカテキン
C:	(+/-) —ガテキン
EC:	(-) —エピカテキン
EGCG:	(-) —エピガロカテキン 3-O-ガレート
ECG:	(-) —エピカテキン 3-O-ガレート

---

フロントページの続き

Fターム(参考) 4B018 LE03 MD25 MD18 MD52 MD53  
 MD59 MD61 MD66 MC14 MF01  
 MH11  
 4CD57 BB03 DD01 KK09  
 4C062 FF56